



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MOTRICIDADE HUMANA



Efeito da ingestão de cafeína sobre o metabolismo de repouso e utilização
de substratos energéticos

Dissertação elaborada com vista à obtenção do Grau de Mestre em Exercício e Saúde

Orientador: Professor Doutor Ricardo Silvestre

Júri:

Presidente

Professora Doutora Fátima Baptista

Vogais

Professora Doutora Analiza Silva

Professor Doutor Ricardo Silvestre

Pedro Miguel Esteves Correia da Silva Cardoso

2012

Índice

Índice de Tabelas	3
Lista de Abreviaturas.....	3
Abstract.....	4
Resumo	5
Agradecimentos	6
1. Introdução.....	7
2. Revisão Bibliográfica	9
2.1. Taxa Metabólica de Repouso (TMR)	9
2.2. Cafeína	12
2.3. Utilização de Substratos Energéticos.....	13
2.4. Cafeína, Taxa Metabólica de Repouso e Utilização de Substratos Energéticos.	19
2.5. Objetivo	20
3. Metodologia	21
3.1. Sujeitos	21
3.2. Design do estudo.....	21
3.3. Medidas de Composição Corporal.....	22
3.4. Análise de registos alimentares	22
3.5. Análise da taxa metabólica de repouso.....	23
3.6. Ingestão de cafeína e placebo	24
3.7. Avaliação da atividade física	24
3.8. Análise estatística	25
4. Resultados	26
5. Discussão.....	31
6. Conclusão	38
7. Bibliografia.....	39

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Características iniciais da amostra	26
Tabela 2 – Comparação entre condições do quociente respiratório e taxa metabólica de repouso.....	27
Tabela 3 - Caraterísticas da alimentação 12 horas antes, entre condições	27
Tabela 4 - Correlações entre QR e consumo de macronutrientes e Calorias.....	28
Tabela 5 - Diferenças na composição corporal, entre condições	28
Tabela 6 - Correlações entre QR e composição corporal	29
Tabela 7 - Comparação de hábitos de Atividade Física nas 24 horas antecedentes à avaliação entre condições	29
Tabela 8 - Correlações entre QR e atividade física	30

Lista de Abreviaturas

% MG – Percentagem de massa gorda

DET – Dispendio Energético Total

EPOC - consumo de O₂ pós-exercício em excesso

Kcal - Kilocalorias

MIG – Massa Isenta de Gordura

QR – Quociente Respiratório

TMR – Taxa Metabólica de Repouso

VCO₂ – Produção de dióxido de carbono

VO₂ – Consumo de oxigénio

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect in substrates utilization (RQ) and resting metabolic rate (RMR) after ingestion of 5 mg/kg/day of caffeine for four days. Energy and macronutrient intake, body composition and physical activity were assessed by questionnaire, dual ray densitometry and acelerometry, respectly. The sample consisted of healthy subjects non-regular consumers of caffeine (n = 23, 24.4 ± 4.3 years). It was a double blind crossover clinical trial in which there were two conditions, for a period of four days each, where the subjects consume caffeine or placebo. Between each condition, there was a 3-day of "washout" period. The subjects were evaluated at the end of each condition. The RMR and RQ were measured from the use of indirect calorimetry. There were no significant differences in RMR between the two conditions. Significant differences were found between conditions, founding a decrease in the RQ (p <0.05). No significant differences were found in feeding, body composition and physical activity between conditions. The results of this study demonstrate in non-regular consumers, the ingestion of 5 mg/kg/day of caffeine, for a period of 4 days, can shift the substrate utilization for metabolic processes by promoting increased fatty acid oxidation, without effects in RMR.

Keywords: Resting metabolic rate, respiratory quotient, fatty acid oxidation

Resumo

O objetivo desta investigação foi verificar o efeito da ingestão de 5 mg/kg/dia de cafeína durante quatro dias, na utilização de substratos energéticos (QR) e na taxa metabólica de repouso (TMR). A ingestão alimentar, a composição corporal e a atividade física foram determinadas através de questionários, Densitometria Radiológica de Dupla Energia (DXA) e acelerometria, respectivamente. A amostra foi constituída por sujeitos masculinos saudáveis e não consumidores habituais de cafeína ($n = 23, 24 \pm 4,3$ anos). Foi utilizado um ensaio clínico cruzado duplamente cego em que existiam duas condições, com a duração de quatro dias cada, em que os sujeitos consumiriam cafeína ou placebo. Entre cada condição, houve um período de “washout” de 3 dias. Os sujeitos foram avaliados no final de cada condição. A TMR e QR foram medidas a partir da utilização de calorimetria indireta. Não existiram diferenças significativas na TMR entre os dois momentos de avaliação. Foram encontradas diferenças significativas entre as duas condições, existindo um decréscimo do QR ($p < 0.05$). Não foram encontradas diferenças significativas na alimentação, composição corporal e atividade física entre condições. Os resultados do presente estudo demonstram que a ingestão de 5 mg/kg/dia de cafeína num período de 4 dias, em sujeitos não consumidores habituais, pode alterar a utilização de substratos energéticos em processos metabólicos, promovendo uma maior oxidação de ácidos gordos, sem efeitos na TMR.

Palavras-chave: Taxa metabólica de repouso, quociente respiratório, cafeína, oxidação ácidos gordos

Agradecimentos

Para o desenvolvimento da seguinte dissertação, para além do meu empenho e dedicação, foi necessária a colaboração, disponibilidade e amizade de várias pessoas, às quais gostaria de prestar o devido agradecimento.

Em primeiro lugar, agradecer ao meu orientador Professor Doutor Ricardo Silvestre pela orientação científica, partilha de conhecimentos e disponibilidade demonstrada ao longo de todo este ano.

À Professora Doutora Analiza Silva, por ter sido uma grande ajuda quando foi necessário trocar o tema e objetivo da tese de dissertação

Ao Pedro Júdice, João Magalhães, Diana Santos, Inês Quintas e Bruno Pereira pela disponibilidade e ajuda para o tratamento e recolha de dados.

Um obrigado especial, ao meu amigo e irmão João Martins, por ser a pessoa que estive e está sempre do meu lado, durante os bons e maus momentos.

Ao Diogo Martins, Francisco Tavares e André Guilherme pela companhia de estudo, discussão científica e amizade que permitiram evoluir não só como profissional, mas também como pessoa.

Ao meu pai, à minha mãe, à Mariana, ao João, à Sofia e à Isabel, por estarem sempre presentes para me motivar e serem o meu “ponto de equilíbrio”, sem vocês a vida não tinha qualquer sentido.

E finalmente, aos meus colegas de equipa de Rugby da FMH, pela constante amizade, partilha de conhecimentos e momentos de descontração em horas de maior stress.

1. Introdução

O aumento da incidência de obesidade e excesso de peso na população é um problema reconhecido a nível global (Donnelly, et al., 2009; M. S. Westerterp-Plantenga, Lejeune, & Kovacs, 2005). A reduzida atividade física e uma excessiva ingestão energética são fatores que parecem estar a influenciar este aumento (Martin, C., Ravussin, E. et al., 2007). A determinação das necessidades energéticas do organismo em repouso pode ser uma importante informação para a prescrição nutricional e de exercício (Compher, Frankenfield, Keim, & Roth-Yousey, 2006). Sendo a taxa metabólica de repouso (TMR) definida como a energia necessária para a preservação da integridade das funções vitais do organismo, a sua determinação poderá ser uma mais-valia para que, a nível nutricional e da prescrição de exercício, possam existir recomendações para a perda de peso, a partir do equilíbrio entre a ingestão e dispêndio energético (Compher, et al., 2006; Flatt, Ravussin, Acheson, & Jequier, 1985). Outro fator a considerar será qual o substrato energético preferencial que estará a ser utilizado para produzir energia para a manutenção das capacidades vitais. Para obter esta informação pode ser utilizado o quociente respiratório (QR), que mede a produção de dióxido de carbono e o consumo de oxigénio, resultado de processos oxidativos. A partir desta medição, será possível identificar qual o substrato a que está a ser utilizado preferencialmente (A. E. Jeukendrup & Gleeson, 2004).

Existem diversos fatores no estilo de vida que podem causar um aumento na quantidade de energia utilizada e na forma como é utilizada. A ingestão alimentar, a composição corporal e a prática de exercício físico influenciam a TMR e a utilização de substratos energéticos e, como tal, devem ser controlados em estudos que pretendam verificar o efeito de uma intervenção no sentido do controlo do peso (Flatt, et al., 1985; Gallagher, et al., 1998; Graham, 2001; Compher, et al., 2006). A cafeína é uma substância consumida por grande parte da população mundial e o seu efeito estimulante sobre o metabolismo é motivo de interesse académico e científico (Burke, 2008; Graham, 2001; M. S. Westerterp-Plantenga, et al., 2005). É uma substância que estimula o sistema nervoso simpático, e a sua ação adrenérgica pode causar algumas alterações no metabolismo energético, provocando uma elevação do metabolismo em repouso e uma modificação na oxidação de substratos energéticos, permitindo maior oxidação de ácidos gordos como substrato energético preferencial (Acheson, Zahorska-Markiewicz, Pittet, Anantharaman, & Jequier, 1980; Graham, 2001; LeBlanc, Jobin,

Cote, Samson, & Labrie, 1985). Pode, por isso, ser uma opção num programa de perda de massa gorda e na diminuição da incidência de algumas doenças cardio-metabólicas (Acheson, et al., 2004; Greenberg, Boozer, & Geliebter, 2006; M. S. Westerterp-Plantenga, et al., 2005).

Nos estudos realizados no âmbito do efeito da cafeína no metabolismo energético, a medição e análise das variáveis de interesse (TMR e QR) foi sempre realizada no período imediatamente após a ingestão de cafeína. Como tal, não existe, para nosso conhecimento, na literatura científica, um estudo que verifique o efeito do consumo habitual de cafeína no metabolismo durante alguns dias. Assim, este estudo teve o intuito de verificar se a ingestão de cafeína durante um período de 4 dias poderia exercer algum efeito na TMR e na utilização de substratos energéticos (QR), em sujeitos saudáveis, não consumidores habituais de cafeína, controlando variáveis influenciadoras, como a ingestão alimentar, a composição corporal e a atividade física.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Taxa Metabólica de Repouso (TMR)

A taxa metabólica de repouso (TMR) é um parâmetro importante na avaliação do estado energético e é utilizada para o cálculo das necessidades energéticas de indivíduos que necessitem acompanhamento nutricional (Lorenzo, et al., 2001; Martin, C., Ravussin, E. et. al., 2007). A TMR pode ser definida como a soma da energia necessária para a manutenção da homeostasia do organismo durante o repouso (Frey-Hewitt, Vranizan, Dreon, & Wood, 1990; Martin, C., Ravussin, E. et. al., 2007). Do ponto de vista metodológico, a TMR é definida como o gasto energético durante 10 a 12 horas em período pré prandial, medida com o sujeito numa posição de decúbito dorsal, num estado de repouso físico e mental e dentro de um ambiente térmico neutro (Lorenzo, et al., 2001).

O dispêndio energético total (DET) é um indicador da quantidade de energia que o organismo necessita durante 24 horas. A TMR tem um impacto no DET dos indivíduos, representado aproximadamente cerca de 60 a 75% do DET (Broeder, Burrhus, Svanevik, & Wilmore, 1992; Martin, C., Ravussin, E. et. al., 2007). Este parâmetro é de grande relevância no que diz respeito à regulação do peso corporal (Poehlman, et al., 2002) e deverá ser tido em conta em programas para a perda de peso (Compher, et al., 2006). O DET pode ser dividido em TMR, o efeito térmico induzido pela alimentação e o dispêndio energético associado à atividade física. Esta divisão por categorias é feita com base no modo de como a energia está a ser utilizada (Speakman & Selman, 2003).

Tem sido demonstrado que existem uma variedade de fatores que influenciam a TMR, incluindo fatores genéticos, a idade, o género, o peso corporal total, a massa isenta de gordura (MIG), nível de aptidão física, fatores hormonais, medicação, stress e temperatura corporal e/ou ambiental (Broeder, et al., 1992). Entre todas as componentes, aquela que mais consistentemente explica a variabilidade da TMR é a MIG, correlacionando estas duas variáveis entre 60 a 80% (Broeder, et al., 1992; Sparti, DeLany, Bretonne, Sander, & Bray, 1997, Martin, C., Ravussin, E. et. al., 2007). Embora representem apenas $6.9 \pm 1.1\%$ da MIG total, o cérebro, o fígado, o coração e os rins, explicam cerca de $58.0 \pm 4.8\%$ do energia utilizada durante o repouso

(Gallagher, et al., 1998). Apesar de representar cerca de $50.4 \pm 4.1\%$ da MIG, a atividade do músculo-esquelético em repouso, representa apenas $22.5 \pm 3.4\%$ do DET (Gallagher, et al., 1998; Zurlo, Larson, Bogardus, & Ravussin, 1990).

A TMR em sujeitos com excesso de peso ou obesidade é maior do que em sujeitos que não apresentem excesso de peso (Nelson, et al., 1992; Thivel, Brakonietki, Duche, Béatrice, Yves, Laferrère, 2012). Uma vez que existe uma forte correlação entre a TMR e a MIG, esta diferença poderá ser verificada devido à maior quantidade de MIG que sujeitos obesos apresentam (Nelson, et al., 1992; Ravussin, Burnand, Schutz, & Jequier, 1982). Após uma intervenção para perda de peso, verifica-se que os sujeitos que realizaram a intervenção apresentaram uma TMR mais baixa que no início do estudo e com valores semelhantes a indivíduos que nunca perderam peso e com uma composição corporal idêntica (Nelson, et al., 1992). Esta ideia vem reforçar não só a forte correlação entre a TMR e a MIG, mas também lançar a ideia da necessidade de manter a MIG durante um programa de perda de peso (Ravussin, et al., 1982; Thivel, et al., 2012).

Tal como a composição corporal, a ingestão alimentar pode provocar alterações na TMR (Flatt, et al., 1985; Hill, 2006). O aumento da TMR deve-se aos processos de digestão dos nutrientes, absorção dos substratos energéticos e armazenamento nas reservas energéticas (Flatt, et al., 1985). No entanto, este aumento verifica-se com maior consistência em sujeitos magros do que em sujeitos obesos (Swaminathan, et al., 1985). Esta ideia da menor elevação da TMR provocada pela alimentação em sujeitos obesos pode estar relacionada com a menor termogénese que é verificada após a ingestão alimentar nestes sujeitos (Swaminathan, et al., 1985). A ingestão alimentar pode também afetar a oxidação de substratos energéticos (Flatt, et al., 1985; Westerterp, 1993). A maior quantidade de hidratos de carbono presentes na dieta, poderá causar uma oxidação de glicose como substrato energético preferencial, podendo inibir a oxidação de ácidos gordos (Hill, et al., 1991; Westerterp, 1993). No entanto, a maior quantidade de gordura alimentar não implica necessariamente a maior oxidação de ácidos gordos. Numa dieta com 45% de gordura, registou-se um decréscimo significativo na oxidação de glicose e um aumento na oxidação de ácidos gordos como substrato energético preferencial (Hill, et al., 1991). Num outro estudo, não se verificou, ao fim de nove horas, maior oxidação de ácidos gordos, quando comparado uma dieta de 11% de gordura com outra com 50% (Flatt, et al., 1985). Esta diferença entre os

resultados encontrados entre os estudos poderá estar relacionada com a constituição da refeição.

A atividade física e o exercício poderão exercer mudanças na TMR de forma aguda e crônica. Um dos efeitos promovidos pelo exercício de força poderá ser o aumento da MIG, isto é, as alterações verificadas na TMR podem ser devidas ao incremento de MIG (Speakman & Selman, 2003). Outro resultado originado pelo exercício resulta do efeito da atividade física em processos fisiológicos no metabolismo de repouso. Imediatamente após o final do exercício físico, o efeito residual verificado deve-se sobretudo ao consumo em excesso de oxigênio pós-exercício (EPOC). O EPOC após um período de exercício tem uma fase de decréscimo rápido mas poderá manter-se elevado até duas horas (Speakman & Selman, 2003). É igualmente sugerido que existe um aumento significativo na TMR até 48 horas após um período de exercício de 30 a 45 minutos (Speakman & Selman, 2003). Outro fator influenciador de uma maior TMR pós-exercício está relacionado com a degradação e ressíntese proteica que ocorre após o exercício. Esta ressíntese pode resultar num aumento de 20% da TMR (Melby, Scholl, Edwards, & Bullough, 1993). Ao analisar o efeito de um programa de exercício aeróbico e de um programa de exercício de força, verificou-se, em ambos os programas, no período de 24 horas pós-exercício, podem aumentar a TMR, promovendo maior utilização de ácidos gordos (Melby, et al., 1993). O efeito destes fatores pode ter um forte impacto na TMR, e devem representar uma estratégia importante para o balanço energético em indivíduos que precisem de perder peso (Speakman & Selman, 2003).

A quantificação do consumo de oxigênio fornece uma estimativa indireta do dispêndio energético. A calorimetria indireta é o método utilizado para estimar o dispêndio energético através das trocas respiratórias, isto é, a medição do volume de oxigênio consumido e do volume de dióxido de carbono produzido (Ferrannini, 1988; A. E. Jeukendrup & Gleeson, 2004). A utilização da calorimetria indireta é uma metodologia fiável e muito utilizada para a quantificação da TMR (Compher, et al., 2006). Quando oxidados, os substratos energéticos produzem determinada quantidade de dióxido de carbono (CO_2) e necessitam de diferentes quantidades de oxigênio (O_2), para processos oxidativos. Os consumos de oxigênio (VO_2) e a libertação de dióxido de carbono (VCO_2) permitem obter dados sobre qual o substrato energético a ser utilizado predominantemente. Este quociente VCO_2/VO_2 , denominado quociente respiratório (QR), terá valores entre 0,69 e 0,73, quando os ácidos gordos forem o substrato

energético preferencial e valores maiores ou iguais a 1,0 quando existir uma predominância na oxidação de glicose (J. E. Jeukendrup, Saris, & Wagenmakers, 1998).

Quando tanto o VO_2 e VCO_2 são medidos por calorimetria indireta. A equação de Weir, $[(3,9 \times \text{VO}_2) + (1,1 \times \text{VCO}_2)]$, pode ser utilizada para estimar a TMR (Weir, 1949). Este cálculo dispensa a medição do metabolismo proteico pois o erro de estimar a partir desta equação, apesar de variável, é praticamente negligenciável (Weir, 1949).

2.2. Cafeína

A cafeína é uma substância com grande aceitação social e é consumida em todo o mundo, estimando-se uma utilização de cerca de 90% da população adulta mundial (Burke, 2008). É uma substância legal e socialmente aceite e os seus riscos para a saúde são mínimos, sendo por isso utilizada há vários séculos em vários tipos de alimentos e bebidas (Burke, 2008; Graham, 2001). Apesar dos efeitos conhecidos de redução da fadiga, aumento da concentração e melhoria do estado de vigília, a cafeína é aceite em alguns desportos e a sua utilização é permitida até doses elevadas. A cafeína está presente em diversas bebidas como o café, o chá e algumas bebidas energéticas (Astorino & Roberson, 2010; Burke, 2008; Graham, 2001). A quantidade de cafeína presente numa dose de um café expresso, tem um valor médio de 107 mg e varia entre as 25 e as 214 mg (Burke, 2008).

Ao nível da sua constituição, a cafeína é um derivado da metilxantina e as suas propriedades diuréticas, analgésicas, estimulante e relaxadora dos músculos lisos são muito exploradas pela indústria farmacêutica (Acheson, et al., 1980; Astrup, et al., 1990). A sua estrutura é muito similar à molécula de adenosina e por isso consegue ligar-se a recetores de adenosina na membrana celular e estimular a ação da AMP cíclica (cAMP) (Graham, 2001). Esta ação sobre a cAMP permite maior atividade da hormona sensível lipase (HSL) e poderá prolongar o efeito estimulador sobre a lipólise (Poehlman, et al., 1985). O consumo de cafeína pode produzir aumentos no metabolismo energético e alterações na utilização dos substratos energéticos, devido a uma maior participação do sistema nervoso simpático (SNS) (Acheson, et al., 2004). A estimulação do SNS pode promover também uma maior libertação de catecolaminas. Este aumento de catecolaminas na circulação promove uma maior lipólise (Acheson, et al., 2004; Graham, 2001; Greenberg, et al., 2006; M. Westerterp-Plantenga, Diepvens, Joosen, Berube-Parent, & Tremblay, 2006) e maior oxidação de ácidos gordos, dado verificado pelos valores reduzidos de QR (Greenberg, et al., 2006).

A ingestão de cafeína no período prévio ao exercício promove melhorias rápidas e significativas no desempenho desportivo (Bell & McLellan, 2002; Graham, 2001). O efeito ergogénico promovido pela cafeína poderá estar relacionado com um atraso na fadiga a partir de uma maior estimulação do SNS. Esta estimulação deve-se à inibição da adenosina, que permitirá uma maior excitabilidade neural e transmissão sináptica, possibilitando um maior estado de vigília (Astorino & Roberson, 2010). A dose óptima para o aumento da performance parece ser difícil estimar, devido à variabilidade apresentada inter-sujeito, mas os valores entre 3 a 6 mg/Kg da massa corporal, parecem apresentar resultados de performance semelhantes a doses mais elevadas. Esta observação permite inferir que a estimulação oferecida pela ingestão de doses mais elevadas de cafeína não representará nenhum benefício à performance (Astorino & Roberson, 2010; Bell & McLellan, 2002; Graham, 2001).

O efeito da ingestão de cafeína parece apresentar diferentes conclusões sobre o efeito no metabolismo da glicose (MacKenzie, et al., 2007; van Dam, Pasma, & Verhoef, 2004). O consumo durante 4 semanas de doses elevadas de cafeína não demonstrou efeitos prejudiciais da cafeína sobre o metabolismo glicídico, indicando que o consumo a longo prazo de cafeína pode ser uma mais-valia na prevenção da incidência de diabetes tipo II na população (van Dam, et al., 2004). Num estudo realizado a partir da ingestão de 200 mg diárias de cafeína, durante uma semana verificou-se uma diminuição na sensibilidade à insulina em sujeitos adultos saudáveis (MacKenzie, et al., 2007). Quando comparada a ingestão de cafeína com a ingestão de placebo verificou-se um aumento significativo na concentração de insulina, sem um aumento significativo na glicose absorvida. Os resultados apresentados neste estudo podem indicar que a cafeína ao promover a hiperinsulinémia poderá inibir a lipólise. Este estudo demonstra ainda que os efeitos adversos da cafeína se prolongam durante pelo menos uma semana, mesmo após uma noite em jejum (MacKenzie, et al., 2007).

2.3. Utilização de Substratos Energéticos

Os alimentos são compostos por três macronutrientes, as proteínas, os lípidos e os hidratos de carbono. A nível molecular, os alimentos são sobretudo compostos por átomos de carbono, hidrogénio, oxigénio e nitrogénio. As ligações moleculares destes compostos são relativamente fracas e produzem pouca energia quando quebradas (Wilmore & Costill, 1999). Quando degradados pelo sistema digestivo, estes nutrientes

formam compostos para poderem ser utilizados como substrato energético. Estes compostos são maioritariamente a glicose e os ácidos gordos, sendo que os aminoácidos não serão utilizados a não ser em condições de escassez alimentar (Wilmore & Costill, 1999). As proporções relativas de ácidos gordos e glicose utilizadas durante o exercício e repouso, vão depender dos hábitos alimentares, do nível de atividade física e, possivelmente, da idade e género dos indivíduos (Lamb & Murray, 1999). Em repouso, as necessidades energéticas do organismo derivam quase somente da utilização de ácidos gordos e glicose, pois a utilização de proteína para produção energética não é um processo eficiente (Wilmore & Costill, 1999).

Os produtos finais da digestão de hidratos de carbono são a glicose, frutose e galactose. A glicose representa cerca de 80% do produto final de digestão dos hidratos de carbono, sendo que os outros produtos são rapidamente convertidos em glicose no fígado. Como resultado, a glicose torna-se no principal monossacarídeo a ser transportado pelo sangue a todo o organismo (Wilmore & Costill, 1999). Em condições de repouso, os músculos e o fígado, convertem este composto numa molécula mais complexa: o glicogénio. O glicogénio é armazenado no fígado e músculo. Quando existir necessidade de produzir energia e/ou as reservas de glicogénio musculares se encontrarem em depleção, o glicogénio do fígado será convertido em glicose e transportado para os tecidos periféricos para ser metabolizado (Guyton & Hall, 1996; Lamb & Murray, 1999; Wilmore & Costill, 1999)

A absorção da glicose pela célula depende da ação na membrana celular de uma hormona: a insulina (Guyton & Hall, 1996). Quando próxima da membrana celular, a insulina liga-se a um recetor específico promovendo a fosforilação do recetor. Uma vez fosforilizado, o recetor irá ativar várias proteínas intra-celulares, que vão facilitar a translocação até à membrana celular de um transportador específico de glicose, o GLUT-4 (Guyton & Hall, 1996; Pessin & Saltiel, 2000). Devido ao tamanho molecular da glicose, este transportador irá facilitar a sua entrada para a célula, aumentando o gradiente de concentração no interior das células. Após a entrada na célula, a glicose é rapidamente fosforilizada para que não se possa difundir para o exterior, formando o composto glicose-6-fosfato (G-6-P) (Guyton & Hall, 1996). A produção de energia a partir do sistema glicolítico inicia-se pela glicólise, com a utilização do G-6-P. Este sistema não requer a presença de oxigénio para se desenrolar e consiste na divisão da molécula de glicose em duas moléculas de piruvato, originando um ganho de duas

moléculas de ATP. O passo seguinte será o Ciclo de Krebs, onde a presença de oxigénio é determinante para o processo. A transformação das moléculas de piruvato, originadas pela glicólise, em acetil-CoA permitirá o início do ciclo de Krebs no interior da mitocôndria. Como na glicólise, são formadas duas moléculas de piruvato por molécula de glicose este ciclo deve completar dois circuitos completos (Guyton & Hall, 1996; Wilmore & Costill, 1999). A formação de acetil-CoA permite formar uma molécula de NADH. As duas moléculas de carbono que formam o acetil irão juntar-se a uma molécula de 4 carbonos (ácido oxalacético) já existente, formando um composto molecular de 6 carbonos (ácido cítrico). Esta molécula libertará dióxido de carbono e o hidrogénio será removido pela ação do NAD^+ , formando outra molécula de NADH (Guyton & Hall, 1996). Seguidamente, uma oxidação e uma descarboxilação irão ocorrer outra vez. Novamente, NADH e dióxido de carbono são produzidos. Além disso será formada uma molécula de ATP (Guyton & Hall, 1996). Finalmente a molécula de 4 carbonos que resta será oxidada e os iões de hidrogénio (H^+) serão utilizados para formar NADH e FADH. Estas reações irão regenerar a molécula de 4 carbonos que no início deste ciclo reage com o acetil-CoA (Guyton & Hall, 1996).

Apesar da reduzida quantidade de ATP formado, a libertação de iões de hidrogénio removidos no ciclo de Krebs, permite à célula formar mais energia a partir da utilização destes átomos. No ciclo de Krebs, as co-enzimas NAD^+ e FAD são reduzidas em $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 . Na mitocôndria, os eletrões da molécula de $\text{NADH} + \text{H}^+$ serão transferidos para uma proteína transportadora de eletrões e os H^+ formados são transferidos através da membrana. À medida que os eletrões vão se movendo entre os citocromos presentes na membrana mitocondrial, mais protões são transportados através da membrana. Ao chegar ao complexo citocromo oxidase, os eletrões vindos do citocromo anterior são transferidos para oxigénio e são formadas moléculas compostas por dois átomos de hidrogénios e um átomo de oxigénio (Guyton & Hall, 1996). Como as membranas mitocondriais são impermeáveis a iões, os protões reentram para a matriz mitocondrial a partir da ação de um canal específico de protões, denominado ATP-sintase. A energia derivada do movimento destes protões pelo ATP-sintase é utilizada para formar ATP, a partir do ADP e fosfato. A partir de cadeia de transporte de eletrões, a metabolização de cada dois H^+ permite a libertação de três ATP, possibilitando à célula formar mais trinta moléculas de ATP (Guyton & Hall, 1996).

Ocasionalmente pode existir a necessidade de produzir energia sem que haja oxigénio suficiente para a oxidação, isto é, o processo anaeróbio (Wilmore & Costill, 1999). Neste caso, a célula utiliza energia a partir da conversão de glicose em ácido pirúvico, pois este processo não necessita da presença de oxigénio para se desenrolar. A utilização desta via anaeróbia, é menos eficiente pois liberta menos energia e ainda resulta na produção de ácido láctico. No entanto é muito importante nos instantes iniciais do exercício onde ainda não existe oxigénio suficiente para a produção energética ou quando é realizado um exercício de alta intensidade e curta duração (Wilmore & Costill, 1999). Se após este processo anaeróbio existir oxigénio disponível, o ácido láctico poderá ser reconvertido em ácido pirúvico e permitirá a formação de mais energia pelo método aeróbio (Guyton & Hall, 1996).

A utilização de ácidos gordos é também importante na produção energética (Wilmore & Costill, 1999). A absorção da gordura ingerida é feita no intestino, onde os triglicéridos são empacotados em lipoproteínas chamadas quilomicras. Depois de transportados pelo sistema linfático até à corrente sanguínea, os triglicéridos presentes nas quilomicras são hidrolisados a partir da ação da enzima lipoproteína lípase, presente na parede endotelial. Esta hidrólise resultará na libertação de ácidos gordos e glicerol na corrente sanguínea com a maior parte dos ácidos gordos imediatamente a difundir-se para o interior das células dos tecidos adjacentes, onde poderão ser utilizadas como energia ou armazenados em forma de triglicéridos. As quilomicras remanescentes serão recolhidas pelo fígado após a ação da lípase hepática na parede do fígado. As lipoproteínas serão então hidrolisadas no interior do fígado. Os ácidos gordos libertados poderão ser utilizados para processos oxidativos no fígado ou convertidos e armazenados em forma de triglicéridos. Quando presentes no fígado, os triglicéridos são transportados na corrente sanguínea, até aos tecidos periféricos para posterior metabolismo. Este transporte é realizado a partir de uma lipoproteína com grande densidade de triglicéridos, a *very low density lipoprotein* (VLDL). Nos tecidos periféricos, as lipoproteínas lípases fazem a hidrólise das VLDL. Como resultado são libertados os ácidos gordos livres para o interior das células dos tecidos adjacentes. Dentro desses tecidos, os ácidos gordos ou são utilizados como fonte energética ou poderão ser novamente convertidos em triglicéridos para serem armazenados (Guyton & Hall, 1996).

Quando necessários para a produção de energia, hormonas como a adrenalina ou o glucagon sinalizarão à célula a necessidade da libertação de substratos energéticos. Para tal, estas hormonas ligam-se a um recetor na membrana celular do adipócito, formando cAMP, que ativará uma proteína quinase. Esta proteína ativará a hormona sensível lipase (HSL) que permitirá a hidrólise dos triglicéridos em ácidos gordos e glicerol, no tecido adiposo, para que possam ser transportados e utilizados como substrato energético no tecido muscular (Guyton & Hall, 1996). O transporte deste substrato será realizado principalmente na corrente sanguínea a partir da ligação dos ácidos gordos com a albumina. Quando chegam ao tecido muscular, os ácidos gordos só poderão entrar na célula por ação de vários recetores específicos de ácidos gordos. A interação dos ácidos gordos com estes recetores na membrana celular aumenta o gradiente de concentração permitindo a entrada de ácidos gordos para o citosol. A oxidação dos ácidos gordos ocorre apenas dentro da mitocôndria. Antes da entrada na mitocôndria, os ácidos gordos de cadeia longa terão de ser ativados, pois estes não conseguem atravessar a membrana mitocondrial sem o auxílio de um transportador específico. Esta reação é catalisada a partir da ação do acil-CoA sendo que o processo de ativação resultará no consumo de duas moléculas de ATP. O composto formado, o “ácido gordo-acil-CoA” irá interagir com um intermediário, a acil-carnitina, gerada por ação de um transportador presente na membrana mitocondrial, a carnitina-palmitol-transferase I (CPT-1). A CPT-1 permitirá uma troca do CoA por uma molécula de carnitina. A molécula de “ácido gordo-carnitina” é transportada então para o interior da mitocôndria, onde por ação da carnitina-palmitol-transferase II (CPT-2), ocorrerá uma troca inversa que permite a regeneração da molécula de “ácido gordo-acil-CoA” e da carnitina livre. Após este processo de transporte, os ácidos gordos são libertados dentro da mitocôndria (Guyton & Hall, 1996).

Uma vez no interior da mitocôndria, os ácidos gordos separam-se do mediador e serão degradados a partir de β -oxidação. Este processo envolve quatro passos, onde por cada ronda são formadas duas moléculas de acetil-CoA. As moléculas de acetil-CoA entram no ciclo de Krebs e os subprodutos formados a partir deste ciclo seguirão para a cadeia transportadora de eletrões, onde sofrerão o mesmo processo de produção de ATP que os mecanismos glicolíticos. Este conjunto de reações permitirá gerar 146 moléculas de ATP por ácido gordo (Guyton & Hall, 1996).

A glicose e os ácidos gordos podem ser utilizados em simultâneo para a produção de energia, podendo haver inibição da utilização de um devido à maior concentração de outro (Hue & Taegtmeyer, 2009). O “ciclo Glicose-Ácidos Gordos”, descrito por Philip Randle (1963), permitiu a primeira explicação para a interação entre os dois substratos energéticos (Randle, Garland, Hales, & Newsholme, 1963). Este ciclo assume que o aumento na disponibilidade de ácidos gordos, para processos energéticos, resulta num aumento da sua utilização, porque o maior processamento de energia a partir da β -oxidação dentro da mitocôndria pode resultar na produção de mais acetil-CoA. Como os ácidos gordos são sujeitos à β -oxidação na mitocôndria, resultará na maior produção de acetil-CoA. Com a maior concentração de acetil-CoA, maior será a concentração de citrato existente no citosol. Este aumento levará à inibição da fosfofrutoquinase (PFK). A PFK tem um papel importante na glicólise pois controla um passo decisivo neste processo, que é a conversão de ATP e frutose-6-fosfato em frutose-1,6-difosfato e ADP. Tendo a PFK um papel tão determinante no processo da glicólise, a sua diminuição poderá causar uma menor taxa de glicólise e, consequentemente, poderá reduzir a absorção de glicose pelo músculo-esquelético, aumentando ainda mais a predominância dos ácidos gordos como substrato energético preferencial (Hue & Taegtmeyer, 2009; Randle, et al., 1963). Apesar de tudo, as conclusões apresentadas por Randle sobre este ciclo foram de experiências *in vitro* de músculo cardíaco ou diafragma em ratos, existindo pouca informação sobre a ação no músculo-esquelético. Além disso, o aumento nas concentrações de citrato muscular são demasiado pequenas para afetar a produção energética a partir da glicólise e não são observáveis alterações na absorção de glicose (Lamb & Murray, 1999; Randle, et al., 1963).

A revisão deste ciclo permitiu também identificar a preservação de ácidos gordos, a partir da utilização de glicose como substrato energético preferencial (Hue & Taegtmeyer, 2009). O aumento da ingestão de hidratos de carbono poderá levar a um aumento na glicémia que poderá causar maior absorção da célula de glicose, por ação da insulina (Lamb & Murray, 1999). A entrada de glicose na célula, a partir do GLUT-4, poderá estimular a glicólise. Este processo levará à produção de piruvato, que por ação de piruvato desidrogenase, formará acetil-CoA, como explicado anteriormente. O acetil-CoA poderá ser utilizado no Ciclo de Krebs com o intuito de produzir energia, no entanto, o excesso na concentração de acetil-CoA poderá promover transformação deste em citrato. O citrato produzido em excesso no interior da mitocôndria migrará para o

citosol, onde se irá regenerar acetil-CoA. O excesso de acetil-CoA no citosol poderá ser carboxilado pela acetil-CoA carboxilase (AAC), transformando esta molécula em malonil-CoA. O malonil-CoA no citosol ao ligar-se às moléculas de CPT-1 presentes na membrana exterior da mitocôndria, podendo ter um efeito inibitório sobre a sua ação. Sabendo que a CPT-1 é responsável pelo transporte dos ácidos gordos de cadeia longa para a mitocôndria poderá haver uma inibição da oxidação de ácidos gordos de cadeia longa, promovendo a sua esterificação para triglicéridos. Assim, o aumento da glicose circulante pode causar a preservação de ácidos gordos e o seu armazenamento no tecido adiposo e fígado, como triglicéridos (Hue & Taegtmeyer, 2009).

2.4. Cafeína, Taxa Metabólica de Repouso e Utilização de Substratos Energéticos

A ingestão de cafeína pode aumentar o dispêndio energético e pode representar uma estratégia para a redução de peso (Acheson, et al., 2004; Dulloo, Geissler, Horton, Collins, & Miller, 1989). A taxa metabólica de repouso é um dos parâmetros onde se observa um aumento devido ao consumo de cafeína (LeBlanc, et al., 1985; Poehlman, et al., 1985). O consumo de 300 mg de cafeína aumenta a taxa metabólica de repouso nos 90 minutos seguintes, tanto em indivíduos treinados como em indivíduos sedentários (Poehlman, et al., 1985). O consumo de cafeína pode também alterar a oxidação de substratos energéticos (Acheson, et al., 1980; Acheson, et al., 2004). A maior ação do SNS e o aumento concentração celular de cAMP podem provocar a maior utilização de ácidos gordos (Acheson, et al., 2004) e tem sido sugerida como possível causa para o aumento no dispêndio energético (Poehlman, et al., 1985). O aumento poderá estar relacionado com a correlação existente entre os níveis de ácidos gordos circulantes e a resposta termogénica da ingestão de cafeína (Poehlman, et al., 1985). Por promover a preservação de glicose e a maior utilização de ácidos gordos como substrato energético preferencial, a ingestão de cafeína parece ser um estímulo que poderá promover o “ciclo Glicose-Ácidos Gordos”, descrito acima (Randle, et al., 1963)

A termogénese parece ser também uma componente afetada pelo consumo de cafeína. Estima-se que o consumo habitual de 600 mg diárias de cafeína (o equivalente a 6 cafés curtos), aumente o dispêndio energético diário em aproximadamente 100 kcal/dia, podendo representar uma estratégia interessante para a perda de peso (Greenberg, et al., 2006) apesar de representar uma quantidade de café desproporcional

às quantidades reais ingeridas por uma pessoa. Tem sido demonstrado que o consumo de cafeína combinado com uma refeição pode aumentar o efeito térmico promovido pela alimentação, tal como o consumo desta substância em período pré-prandial (Acheson, et al., 1980; Greenberg, et al., 2006). Apesar do aumento que a cafeína promove ao nível da termogénese, lipólise e oxidação de ácidos gordos, o aumento parece verificar-se com maior consistência em sujeitos não obesos (Greenberg, et al., 2006). Estas diferenças parecem derivar de uma menor sensibilidade aos estímulos lipolíticos que os sujeitos obesos apresentam em relação com os sujeitos não-obesos (Acheson, et al., 1980).

2.5. Objetivo

O objetivo principal deste estudo foi de analisar se a toma de cafeína exerce alguma alteração na utilização de substratos energéticos (QR) e na TMR após 4 dias de ingestão de cafeína comparado com uma condição placebo em sujeitos saudáveis e não consumidores habituais de cafeína, após a toma de 5 mg/kg/dia de cafeína controlando para a alimentação, a composição corporal e a atividade física.

3. Metodologia

3.1. Sujeitos

A amostra foi constituída por 30 indivíduos do sexo masculino. Como critérios de inclusão estes deveriam ter entre 18 e 38 anos, índice de massa corporal (IMC) entre 18.5 e 29.9 kg/m², não fumadores e não serem consumidores regulares de cafeína. Antes de participar no estudo, foi feito um questionário para que os sujeitos pudessem reportar o consumo habitual de cafeína de modo a verificar se eram consumidores. Dos 30 sujeitos, 7 sujeitos foram retirados da amostra por não apresentarem dados válidos na avaliação da TMR ou nos diários alimentares.

Todos os sujeitos foram informados dos potenciais riscos da investigação antes de assinarem um consentimento informado para participar no estudo. Todos os procedimentos foram avaliados pelo Comité de Ética da Faculdade de Motricidade Humana, Universidade Técnica de Lisboa.

3.2. Design do estudo

O estudo foi um ensaio clínico cruzado duplamente cego com duas condições numa sequência aleatória: ingestão de placebo ou de cafeína (5 mg de cafeína por kg de peso por dia). Cada condição teve a duração de 4 dias em que os sujeitos ou estariam a consumir cafeína ou um placebo. Entre cada condição, houve um período de “washout” de 3 dias. Durante cada condição foi pedido aos sujeitos que mantivessem os mesmos hábitos alimentares e de atividade física. As avaliações foram realizadas em 3 momentos distintos: avaliação inicial, que correspondia à primeira manhã que os sujeitos compareciam no laboratório onde lhes foi atribuída aleatoriamente uma condição experimental e onde realizaram um questionário de inclusão, preenchimento do consentimento informado e medição de valores de composição corporal e TMR. O segundo momento de avaliação era realizado no quarto dia, sendo que seria o final de uma das condições (onde houve um consumo de 2,5mg/kg de cafeína ou placebo, na manhã antes da avaliação). O terceiro momento de avaliação foi realizado aproximadamente 11 dias após a avaliação inicial (8 dias após o final da primeira condição e 4 dias após o período de “washout”) e no final de uma segunda condição

experimental (caféina ou placebo). No dia antes das avaliações foi pedido aos sujeitos que se abstivessem da prática de exercício vigoroso, do consumo de álcool ou de alguma bebida diurética.

3.3. Medidas de Composição Corporal

A avaliação do peso dos participantes foi feita com os sujeitos descalços e de roupa interior, numa balança conectada ao pletismógrafo (BOD POD®, Life Measurement Instruments, Concord, CA, USA), com aproximação ao valor 0,01 kg. A altura foi medida num estadiómetro (SECA, Hamburg, Germany) com aproximação aos 0,01 cm. O IMC foi calculado pela fórmula, $\text{Peso (kg)} / \text{Altura (m}^2\text{)}$.

A Densimetria Radiológica de Dupla Energia (DXA) foi usada para a avaliação da composição corporal (Hologic Explorer W, software QDR for Windows v. 12.4, Waltham, USA) pela medição da atenuação dos raios-X emitidos com frequências entre 70 e 140kV sincronizados com a frequência de linha para cada pixel da imagem recolhida pelo scan. Após 12h de jejum, foi realizada a cada participante uma avaliação da massa gorda (MG) e massa isenta de gordura (MIG), utilizando o sistema de avaliação de corpo inteiro. Antes de cada teste, o aparelho foi calibrado de acordo com as recomendações do fabricante. Os mesmos técnicos posicionaram o sujeito e realizaram o scan e a análise de resultados. Baseado no teste-reteste de 10 indivíduos, o coeficiente de variação (CV) no laboratório é de 1,7% para a MG e de 0,8% para a MIG.

3.4. Análise de registos alimentares

A ingestão alimentar foi avaliada utilizando registos alimentares de 24h, durante os 11 dias em que os sujeitos foram monitorizados. Na primeira visita ao laboratório, os sujeitos foram instruídos a como relatar o tamanho das porções, os suplementos, o aspeto de preparação, e outros aspetos pertinentes para melhorar a precisão do registo. Durante a segunda visita, os registos alimentares dos sujeitos foram avaliados, por um nutricionista, para ver se estavam a ser bem preenchidos. No último momento, os

registros foram entregues e foram revistos para verificar a ingestão de água, composição em macronutrientes e ingestão energética diária. Os registros alimentares foram analisados com um software (essor SQL), para obter os valores energéticos e de macronutrientes das refeições. Para o objetivo do estudo, foi avaliada a ingestão alimentar nas 12 horas precedentes às duas avaliações experimentais.

3.5. Análise da taxa metabólica de repouso

Durante a avaliação, o sujeito encontrava-se acordado e deitado em posição de decúbito dorsal e com o mínimo de movimento possível. O teste foi realizado com o indivíduo sem qualquer stress psíquico ou externo e no mínimo com 8h de sono, auto relatado pelos sujeitos. Antes de começar a recolha de gases, foi colocado o equipamento de recolha (cardiofrequencímetro, máscara e umbilical de recolha de gases) e o sujeito ficou 30 minutos em período de estabilização. Após a estabilização, registou-se a análise de gases durante os 30 minutos seguintes. Durante o teste a temperatura da sala de avaliação, manteve-se termo-neutra, entre 22°C e 24°C. A TMR foi medida a partir da utilização de calorimetria indireta, utilizando o analisador de gases CPX Ultima da MedGraphics (Medical Graphics Corporation, St. Paul, USA)

Antes de cada teste foi realizada a calibração dos equipamentos de acordo com as recomendações do fabricante. Antes de se deslocarem ao laboratório, os sujeitos foram aconselhados a evitarem esforços intensos no dia anterior e na deslocação até ao laboratório, e a virem em estado pré-prandial de pelo menos 10 horas. Anteriormente ao início da avaliação, os sujeitos foram instruídos sobre os procedimentos do teste. Os testes foram realizados durante as primeiras horas da manhã, entre as 7:00 e as 11:00.

Para a análise dos valores de VO_2 e VCO_2 foi feita a média das medições *breath-by-breath* para conjuntos de 1 minuto. Com estes conjuntos de 1 minuto, os valores foram agrupados em conjuntos de 5 minutos de teste. Após descartar os primeiros 5 minutos, encontrou-se o período de 5 minutos com o coeficiente de variação (CV) para VO_2 , VCO_2 e QR, inferior a 10% (Compher, et al., 2006). Após verificar a existência de intervalos de *steady state*, analisou-se qual o período onde existiria a menor TMR a partir da equação de Weir, $[(3,9 \times VO_2) + (1,1 \times VCO_2) \times 1440]$, representando o valor de 1440 o número de minutos por dia (Weir, 1949). Intervalos de tempo com valores de

QR inferiores a 0,7 e superiores a 1 foram rejeitados. Baseado no teste-reteste a 7 sujeitos o coeficiente de variação (CV) do laboratório para a TMR é de 7%.

3.6. Ingestão de cafeína e placebo

Após a pesagem dos indivíduos, foi preparada a dose individualmente para assegurar que seriam administradas 5 mg por kg de peso. A cafeína foi ingerida a partir de duas cápsulas diárias, de manhã e após a hora de almoço. Para a condição de placebo, foi utilizada a mesma cor das cápsulas e a mesma quantidade de 5 mg/kg/dia, utilizando maltodextrina em vez de cafeína. Na manhã do quarto dia, precedente a cada momento de avaliação, os sujeitos ingeriam metade da dose diária, 2,5 mg/kg.

3.7. Avaliação da atividade física

A atividade física diária foi medida utilizando a acelerometria durante os 11 dias de duração do estudo. O acelerómetro utilizado foi o *Actigraph®* GT1M (*Actigraph*, GT1M model, Fort Walton Beach, FL, USA), de dimensões 5,3x5,1x2,2cm, com a capacidade de medir acelerações no plano vertical através de um acelerómetro uni-axial. O acelerómetro foi colocado ao nível da crista ilíaca direita, no cruzamento com a linha axilar, utilizando um cinto elástico como modelo de suporte.

Os dados do acelerómetro foram recolhidos com *epochs* de 10 segundos e convertidos para *epochs* de 1 minuto utilizando o Microsoft EXCEL. Para o conjunto de dados ser considerado válido o acelerómetro devia ser utilizado pelo menos 600 minutos. Adicionalmente, de entre os dias de registo pelo menos dois teriam de ser dias de semana e um de fim-de-semana. O software utilizado para inicializar e descarregar os dados do acelerómetro foi o ActiLife Lifestyle® (versão 3.2, Fort Walton Beach, FL, USA), e foi também usado o programa MAHUFFe (versão 1.9.0.3, MRC Epidemiology Unit, Institute of Metabolic Science, Cambridge, UK) para averiguar o tempo de utilização deste instrumento.

3.8. Análise estatística

Os dados recolhidos foram analisados através do programa estatístico SPSS Statistics for Windows versão 20.0, 2011 (SPSS Inc., IBM Company, Chicago). Em todos os testes, o nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

No que diz respeito à estatística descritiva inicial da amostra, foram calculados os valores médios e os respetivos desvios-padrão. Adicionalmente foram analisados os coeficientes de correlação de *Pearson*. O objetivo da determinação deste coeficiente foi verificar a existência ou não de uma associação entre os diferentes pares de variáveis. Para avaliar se existiriam diferenças entre as duas condições experimentais ao nível da composição corporal, atividade física e alimentação, foram utilizados os testes t de *student* emparelhados de modo a comparar os valores médios de cada variável, obtidos na condição experimental ou na condição de placebo. Para verificar se a condição experimental causaria algum efeito no QR e TMR, foram utilizados os testes t de *student* emparelhados para comparar os valores médios obtidos em cada um dos momentos de avaliação. Foi realizada uma análise de co-variâncias (ANCOVA) para verificar o efeito das variáveis independentes (ingestão alimentar, composição corporal e atividade física) sobre a variável dependente (quociente respiratório).

4. Resultados

As características iniciais dos sujeitos estão apresentadas na Tabela 1. A amostra constou com 23 sujeitos do sexo masculino com idades entre os 20 e os 38 anos, com uma idade média de 24 anos. O peso variava entre 51,8 e os 90,2 kg com um valor médio de 71,3kg. O IMC teve um valor médio de 22,8 kg/m² e com uma variação entre 18,8 e 26,8 kg/m². A massa isenta de gordura teve um valor médio para a amostra de 59,0 kg e com um intervalo entre os 46,2 e os 70,3 kg.

Tabela 1 - Características iniciais da amostra

	Média (DP)	Variação
Idade (anos)	24,4 ± 4,3	20 - 38
Altura (cm)	176,7 ± 7,5	164,0 – 192,7
Peso (kg)	71,3 ± 8,9	51,8 – 90,2
IMC (kg/m ²)	22,8 ± 2,3	18,8 – 26,8
MG (kg)	11,5 ± 4,1	5,2 – 11,5
MIG (kg)	59,0 ± 6,4	46,2 – 70,3
DP = desvio padrão; IMC = índice de massa corporal; MG= massa gorda; MIG = massa isenta de gordura		

Como se verifica na Tabela 2 não existiram diferenças entre a TMR nos dois momentos de avaliação Relativamente ao QR, foram encontradas diferenças significativas entre as duas condições ($p < 0.05$).

Tabela 2 – Comparação entre condições do quociente respiratório e taxa metabólica de repouso

Condição	QR	TMR (kcal/dia)
Placebo	0,90 ± 0,05	1410,0 ± 234,3
Cafeína	0,87 ± 0,06 *	1397,7 ± 224,9
p-value	0,038	0,714

QR = quociente respiratório; TMR = taxa metabólica de repouso;
 * = p< 0,05 entre condições

Em nenhum dos parâmetros alimentares foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (Tabela 3) entre a condição de cafeína e a condição placebo. O valor energético (kcal) teve um valor médio de 958,8 kcal na condição de placebo e de 740,5 kcal na condição de cafeína. O consumo de hidratos de carbono teve um valor médio de 104,6 gramas na condição de placebo e 86,6 gramas na condição de cafeína. O consumo de gordura teve um valor médio de 34,2 gramas na condição de placebo e 24,8 gramas na condição de cafeína.

Tabela 3 - Características da alimentação 12 horas antes, entre condições

Condição	Kcal	Proteína (g)	Hidratos de Carbono (g)	Gordura (g)
Placebo	958,8 ± 542,4	52,6 ± 31,5	104,6 ± 82,4	34,2 ± 24,0
Cafeína	740,5 ± 289,8	39,0 ± 23,9	86,6 ± 36,3	24,8 ± 17,9
p-value	0,102	0,082	0,266	0,161

As correlações encontradas entre o quociente respiratório (QR) e o consumo de macronutrientes e calorias, apresentaram correlações fracas tanto na condição de placebo como na condição experimental. Nenhuma destas correlações foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Correlações entre QR e consumo de macronutrientes e Calorias

Condição Placebo	Kcal	Proteína	Hidratos Carbono	Gordura
QR	,136	-,027	,169	,191
Condição Cafeína	Kcal	Proteína	Hidratos Carbono	Gordura
QR	,126	,081	,071	,128

Para verificar a existência de diferenças na composição corporal comparou-se a massa isenta de gordura (MIG) e a massa gorda (MG) nos dois momentos. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas nem na MIG nem na MG (Tabela 5).

Tabela 5 - Diferenças na composição corporal, entre condições

Condição	MIG (kg)	MG (kg)
Placebo	58,4 ± 5,8	11,4 ± 4,3
Cafeína	58,9 ± 6,4	11,3 ± 4,1
p-value	0,61	0,60
MIG = massa isenta de gordura; MG = massa gorda		

Existe uma correlação forte, estatisticamente significativa, entre o quociente respiratório (QR) e a MIG. A correlação entre o QR e a MG apresenta uma correlação fraca tanto na condição de placebo como na condição experimental. Esta correlação não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlações entre QR e composição corporal

Condição Placebo	MIG	MG
QR	-,507*	,102
Condição Cafeína	MIG	MG
QR	-,507*	,102

QR = quociente respiratório; MIG = massa isenta de gordura;
MG = massa gorda; * = $p < 0,05$ entre condições

Foi feita uma comparação entre a atividade física realizada no dia precedente a cada avaliação. Comparando as condições, ambos os grupos não apresentaram diferenças significativas, nos minutos que passaram em atividade física ligeira, moderada ou vigorosa (Tabela 7).

Tabela 7 - Comparação de hábitos de Atividade Física nas 24 horas antecedentes à avaliação entre condições

Condição	Atividade Física Total (min)	Atividade Física Ligeira (min)	Atividade Física Moderada (min)	Atividade Física Vigorosa (min)
Placebo	205,1 ± 84,7	145,6 ± 54,9	42,7 ± 32,7	6,9 ± 15,0
Cafeína	196,2 ± 79,1	158,3 ± 56,6	40,8 ± 31,2	5,1 ± 10,3
p-value	0,62	0,28	0,81	0,65

As correlações encontradas entre o quociente respiratório (QR) e a atividade física total, leve, moderada e vigorosa apresentaram correlações fracas tanto na condição de placebo como na condição experimental. Nenhuma destas correlações foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Correlações entre QR e atividade física

Condição Placebo	AF	AF ligeira	AF moderada	AF vigorosa
QR	-,151	-,064	-,277	-,076
Condição Cafeína	AF	AF ligeira	AF moderada	AF vigorosa
QR	-,187	-,045	-,346	,181

AF = atividade física; QR = quociente respiratório

As análises de co-variância realizadas para verificar o efeito das variáveis independentes sobre a variável dependente não apresentaram efeitos estatisticamente significativos para nenhuma das variáveis independentes sobre a variável dependente.

5. Discussão

Os resultados do presente estudo demonstram que a ingestão de 5 mg/kg/dia de cafeína num período de 4 dias, em sujeitos não consumidores habituais, altera a utilização de substratos energéticos em processos metabólicos, promovendo uma maior oxidação de ácidos gordos. Esta alteração é confirmada por uma diminuição significativa do QR, entre uma condição com a ingestão de cafeína e uma condição de ingestão de placebo.

Tendo em conta que a cafeína não produziu nenhuma alteração significativa na taxa metabólica de repouso (TMR), para o mesmo dispêndio energético, a energia necessária para a manutenção das funções básicas do organismo poderá depender mais da oxidação de ácidos gordos. Como tal, a redução do QR, relacionada com uma maior mobilização de ácidos gordos promovidos pelo efeito adrenérgico da cafeína (Acheson, et al., 2004; Graham, 2001; Greenberg, et al., 2006; M. Westerterp-Plantenga, et al., 2006), poderá significar uma maior lipólise de triglicéridos armazenados com maior libertação de ácidos gordos (Jensen, Bajnárek, Lee, Nielsen, & Koutsari, 2009). A maior disponibilidade deste substrato poderá significar maior utilização, havendo as condições metabólicas para tal. Ao estimular a maior utilização de ácidos gordos poderá ser produzida maior quantidade de acetil-CoA. A maior produção de acetil-CoA pode resultar na maior produção de citrato no citosol. A ação do citrato no citosol poderá causar a uma inibição da glicólise e, por isso, a cafeína poderá inibir a utilização de glicose como substrato energético preferencial (Guyton & Hall, 1996; Hue & Taegtmeyer, 2009; Lamb & Murray, 1999; Randle, et al., 1963). Este processo pode, por isso, resultar numa redução da trigliceridémia que poderá levar a uma redução das reservas de triglicéridos intra-musculares e das reservas de triglicéridos armazenados no tecido adiposo (Guyton & Hall, 1996; Lamb & Murray, 1999).

A administração de cafeína tem sido demonstrada como uma substância capaz de alterar a TMR e promover a maior oxidação de ácidos gordos (LeBlanc, et al., 1985; Poehlman, et al., 1985). No estudo realizado por LeBlanc (1985), a administração de 4 mg/kg de cafeína provocou um aumento na TMR e uma redução no QR. Segundo este autor, o aumento da TMR deveu-se sobretudo à maior concentração de adrenalina. A estimulação adrenérgica poderá ter permitido uma maior oxidação de substratos energéticos, neste caso, maior oxidação de ácidos gordos (LeBlanc, et al., 1985). Num outro estudo realizado por Poehlman, verificou-se que a ingestão de 300 mg de cafeína

causou também um aumento na TMR e promoveu um decréscimo do QR, provavelmente devido a um aumento na disponibilidade de ácidos gordos (Poehlman, et al., 1985). Ao existir um aumento da TMR e decréscimo do QR, os autores sugerem que os indivíduos terão uma maior oxidação de ácidos gordos durante o repouso (Poehlman, et al., 1985). Os resultados dos dois estudos acima descritos apontam a cafeína como uma substância capaz de aumentar a TMR e promover maior utilização de ácidos gordos como substrato energético. No nosso estudo, apesar da alteração verificada no QR, não se verificou nenhum efeito na TMR. Este resultado pode estar relacionado com o facto de poder existir um efeito de habituação à ingestão de cafeína (Graham, 2001). Esta diferença de resultados, entre o nosso estudo e os estudos de Poehlman (1985) e LeBlanc (1985), poderá dever-se a diferenças metodológicas, isto é, enquanto a avaliação da TMR e QR foi realizada imediatamente após a ingestão de cafeína nos estudos anteriores, no nosso estudo foi realizada durante um período de 4 dias. A avaliação das variáveis de interesse feita alguns dias após o consumo regular de cafeína poderá dar a informação de qual será a resposta metabólica em repouso, quando um sujeito ingerir esta substância de forma habitual. Poderia esperar-se no estudo, um aumento na TMR com a ingestão de cafeína. Esta expectativa não se verificou, talvez devido a um efeito de habituação do organismo à utilização da ingestão ou por não existir uma alteração significativa na alimentação, ou composição corporal ou atividade física (Barrows & Snook, 1987; Frey-Hewitt, et al., 1990; Gallagher, et al., 1998; Zurlo, et al., 1990).

No nosso estudo, para controlar se o efeito da ingestão de cafeína seria o único fator a afetar as variáveis de interesse (TMR e QR), verificou-se se existiriam diferenças significativas na alimentação, na composição corporal e na atividade física total dos dias precedentes à avaliação. Não existiram diferenças significativas entre condições nas três variáveis controladas, podendo ser atribuído o decréscimo do QR ao efeito promovido pela ingestão de cafeína.

A ingestão alimentar pode influenciar a TMR por produzir um aumento no consumo de oxigénio (Flatt, et al., 1985). Este aumento da TMR deve-se aos processos de digestão dos nutrientes, absorção dos substratos energéticos e armazenamento das reservas energéticas (Flatt, et al., 1985). No presente estudo, tivemos o cuidado de caracterizar a alimentação dos participantes, 12 horas antes da medição da TMR, não se verificando qualquer associação da componente alimentar sobre as variáveis de

interesse (TMR e QR). Resultados encontrados em estudos anteriores verificam que, com diferentes tipos de dieta, existe um aumento na TMR e variação do QR, quando estas variáveis são avaliadas imediatamente após o momento alimentar. No entanto, não se verificam diferenças na TMR nem na utilização de substratos energéticos, após 12 horas de jejum (Flatt, et al., 1985; Hill, et al., 1991; Soares, Sequeira, & Shetty, 1988). Ao comparar o efeito de diferentes dietas, com percentagens fixas de hidratos de carbono e proteína e percentagens variáveis de gordura alimentar, com maior quantidade de gordura existente na dieta, não se observou um aumento na oxidação de ácidos gordos ao fim de 9 horas após a ingestão da refeição (Flatt, et al., 1985). Num outro estudo realizado por Hill (1991), ao fim de 3 dias, o QR é afetado de acordo com a dieta que os sujeitos se encontram, isto é, quando submetidos a uma dieta com 60% de hidratos de carbono, verifica-se uma maior oxidação de glicose em relação aos outros substratos. Enquanto numa dieta com 45% de gordura, regista-se um decréscimo na oxidação de glicose e um aumento na oxidação de ácidos gordos como substrato energético preferencial (Hill, et al., 1991). Este resultado observado por Hill, poderá estar relacionado com o “ciclo Glicose-Ácidos Gordos”, apresentado por Randle. Neste “ciclo Glicose-Ácidos Gordos”, a maior disponibilidade na célula de ácidos gordos poderá promover a preservação de glicose e aumentar a utilização de ácidos gordos como substrato energético preferencial devido ao efeito inibitório provocado sobre a PFK (Randle, et al., 1963). Os resultados destes estudos demonstram que alterações na dieta levam a rápidas alterações na utilização de substratos energéticos, onde se equilibra a ingestão de nutrientes com a sua oxidação (Hill, et al., 1991). Como no presente estudo também não se verifica uma correlação significativa do QR com as componentes alimentares, nem houve uma alteração significativa entre condições das componentes nutricionais e calórica da alimentação dos sujeitos, concluímos que a componente alimentar não tendo sido significativamente diferente entre condições, não exerceu influência diferente na oxidação de substratos energéticos.

A composição corporal pode exercer alterações no metabolismo energético devido à forte correlação com a massa isenta de gordura (MIG) (Sparti, et al., 1997; Wang, et al., 2000; Zurlo, et al., 1990). A MIG pode explicar cerca de 60 a 80% da variabilidade da TMR (Broeder, et al., 1992; Sparti, et al., 1997). Como tal, se existissem alterações significativas na MIG, entre os dois momentos, poderia influenciar o resultado final. No estudo realizado por Nelson (1992), verificou-se que a

perda de peso e as alterações verificadas na MIG causaram uma redução na TMR. Ao realizar um programa de redução de peso em sujeitos obesos, onde se verificou uma perda de 23% de MIG, verificou-se um decréscimo de 11% na TMR. Este decréscimo na TMR deve-se sobretudo à forte correlação existente entre a MIG e a TMR (Nelson, et al., 1992). Verificou-se no presente estudo que entre os dois momentos não existiram diferenças estatisticamente significativas ao nível da composição corporal entre as duas condições. Ao não existirem diferenças estatisticamente significativas na composição corporal, entre momentos de avaliação, a dose de cafeína aplicada pode não ter sido suficiente para causar alterações nem na MIG nem na % de massa gorda. Estes dados poderão indicar-nos que, para uma população saudável, a duração na ingestão deste suplemento, necessária para induzir alterações significativas na composição corporal, poderá ter de ser superior a quatro dias.

A prática de exercício físico nas 24 horas precedentes à avaliação pode também afetar a TMR e o QR, devido a diversos fatores como a degradação e ressíntese proteica, as alterações nas concentrações hormonais ou a maior atividade do sistema nervoso simpático (Melby, et al., 1993). A atividade física pode influenciar, a nível agudo, a TMR, podendo causar um aumento de 5 – 10%, devido à elevação do EPOC até 48h (Speakman & Selman, 2003). Em jovens fisicamente ativos, o exercício físico de intensidade moderada realizado 18 horas antes da avaliação pode aumentar em 4,7% a TMR e aumentar a oxidação de ácidos gordos, quando comparado com condições de repouso (Bielinski, Schutz, & Jequier, 1985). Os possíveis mecanismos responsáveis por este aumento no dispêndio energético poderão estar relacionados com a reposição de reservas de glicogénio, alterações hormonais, ressíntese proteica e aumento da termogénese (Bielinski, et al., 1985; Melby, et al., 1993). No nosso estudo, os sujeitos foram instruídos a não realizar exercício físico vigoroso nas 24 horas antecedentes às avaliações para que não existisse um efeito de enviesamento sobre os resultados de metabolismo de repouso (Compher, et al., 2006). A partir da utilização da acelerometria, caracterizaram-se os hábitos de atividade física durante os 11 dias de extensão do estudo e analisou-se a atividade física realizada nas 24 horas antecedentes a cada avaliação. Desta forma, pode verificar-se se, entre condições, existiriam diferenças significativas, que pudessem estar a afetar as variáveis de interesse (TMR e QR). Entre as duas avaliações não se verificaram diferenças na quantidade e no tipo de atividade

física realizada, o que nos indicará que este fator terá exercido o mesmo efeito entre condições.

Para controlar o possível efeito sobre a variável dependente realizou-se a análise de co-variâncias. A alimentação nas 12 horas precedentes à avaliação não provocou um efeito significativo na diferença encontrada no QR. Apesar disso, o consumo de gordura na condição de cafeína foi aquele que apresentou maior relevância apesar de não se demonstrar significativo. Este resultado tem algum sentido pois a maior mobilização de ácidos gordos promovida pelo efeito da cafeína pode levar a que os ácidos gordos da alimentação sejam preferencialmente utilizados. A composição corporal, MIG e MG, também não apresentou um efeito significativo na diferença encontrada no QR entre as condições. Este resultado é coerente uma vez que o período de realização do estudo não será o suficiente para permitir alterações significativas na composição corporal. A atividade física também não teve um efeito estatisticamente significativo sobre a diferença do QR entre condições. Como os sujeitos teriam sido instruídos a não realizar exercício físico de intensidade elevada, existiria uma janela temporal suficiente para que a esta variável não influenciasse o QR.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com a literatura, ao demonstrar que a ingestão de cafeína pode alterar a utilização de substratos energéticos, promovendo a maior oxidação de ácidos gordos (Acheson, et al., 1980; Graham, 2001; LeBlanc, et al., 1985; MacKenzie, et al., 2007; Poehlman, et al., 1985; M. S. Westerterp-Plantenga, et al., 2005). No entanto, os estudos realizados no âmbito de alterações metabólicas exercidas pela cafeína (LeBlanc, et al., 1985; Poehlman, et al., 1985) utilizaram uma medição da TMR e QR nas 2 horas seguintes à ingestão do suplemento, não verificando o possível efeito que esta substância poderia exercer se ingerida durante alguns dias. Além disso, maioria dos estudos realizados neste âmbito, utilizam indivíduos saudáveis, apresentando níveis de insulina normais. As concentrações desta hormona poderão estar a exercer efeito inibitório na utilização de ácidos gordos como substrato energético preferencial pois o estado de hiperinsulinemia pode causar uma redução da lipólise a partir da inibição da HSL. Com a diminuição da hidrólise de triglicéridos em ácidos gordos, irá existir uma redução da disponibilidade de ácidos gordos. Esta menor disponibilidade resultará numa redução da oxidação de ácidos gordos e uma maior preservação de triglicéridos no tecido adiposo (Guyton & Hall, 1996; Lamb & Murray, 1999).

O nosso estudo foi realizado com uma população de sujeitos ativos e saudáveis onde, controlando o efeito da alimentação, se verificou um efeito no QR na condição de ingestão de cafeína. Por isso, a cafeína poderá estar a exercer um efeito adrenérgico, promovendo um maior efeito lipolítico, estimulando a utilização de ácidos gordos como substrato energético. A maior utilização de ácidos gordos numa população saudável e normoponderal poderá promover a preservação das reservas de glicose. Com a manutenção dos níveis de glicose, este substrato pode ser utilizado preferencialmente para funções do sistema nervoso central, promovendo melhor desempenho motor e cognitivo.

Visto que no nosso estudo a aplicação deste suplemento potenciou a maior utilização de ácidos gordos em sujeitos saudáveis e, como verificado em alguns estudos (M. Westerterp-Plantenga, et al., 2006; M. S. Westerterp-Plantenga, et al., 2005), a longo prazo, poderá promover uma redução das reservas de triglicéridos no tecido adiposo, seria de interesse aplicar esta metodologia a indivíduos com excesso de peso e disfunções metabólicas. Por isso, poderia verificar-se se a cafeína exerceria o mesmo efeito lipolítico e de oxidação de ácidos gordos em indivíduos com excesso de peso e que apresentassem níveis pré-prandiais de insulina fora das concentrações sanguíneas normais. Neste sentido, poderia realizar-se um estudo numa população com excesso de peso, resistência à insulina e hiperglicémica em repouso (valores >100 mg/dL) (American College of Sports Medicine., Thompson, Gordon, & Pescatello, 2010), analisando se a ingestão de cafeína poderia estar a potenciar a maior utilização de ácidos gordos como substrato energético preferencial. Este tema tem sido desenvolvido por alguns autores, que demonstraram que, a partir da suplementação de cafeína, em indivíduos com excesso de peso, existe uma perda de peso e redução das reservas adiposas (Greenberg, et al., 2006; M. S. Westerterp-Plantenga, et al., 2005), mas sem ainda ter sido verificado em sujeitos que apresentem disfunções do foro metabólico. Seria por isso, interessante verificar para uma população com disfunções metabólicas, se a cafeína tornaria os ácidos gordos o substrato energético preferencial, podendo melhorar a sensibilidade à insulina.

Um problema que poderia surgir poderia estar relacionado com a dose aplicada no nosso estudo. Esta dosagem pode não representar uma rotina habitual, por corresponde a aproximadamente quatro cafés curtos, o que poderá não ser uma quantidade ingerida durante um só dia. Por isso, se fosse feito um controlo alimentar

rigoroso e fosse prescrita a atividade física adequada aos participantes, a toma de café poderia ser complementada com a ingestão de um suplemento alimentar de cafeína, de forma a respeitar a dose apresentada.

Limitações

A utilização da calorimetria indireta para a medição da TMR providencia informação sobre o consumo de O₂, produção de CO₂ em repouso e QR. Estes valores permitem ter informação sobre as necessidades energéticas e qual o substrato preferencial em repouso (Cooper, et al., 2009). O equipamento utilizado para a medição da TMR e QR foi o analisador de gases CPX Ultima da MedGraphics (Medical Graphics Corporation, St. Paul, USA). Numa tentativa de verificar a fiabilidade intra-sujeito, comparou-se o CPX Ultima com o equipamento de referência, o Deltatrac Metabolic Monitor. Verificou-se que o CPX Ultima não apresenta resultados de TMR confiáveis, isto é, para a medição de TMR este equipamento não está validado (Cooper, et al., 2009). No entanto, este é o único equipamento disponível para esta avaliação nas instalações e o seu coeficiente de variação de 4% para a TMR não é demasiado elevado. (Cooper, et al., 2009)

A utilização do QR apesar de ser um método válido para a avaliação na utilização de substratos energéticos (Jensen, et al., 2009), é limitado por fatores como a acumulação de resíduos de água, a inspiração forçada dos sujeitos ou o desconforto dos sujeitos que podem resultar em dados inválidos na avaliação. Apesar disso, foi controlado durante todas as avaliações o conforto de todos os sujeitos e a limpeza do material durante a avaliação.

Os questionários alimentares são uma ferramenta validada e muito utilizada no âmbito de estudos nutricionais mas podem apresentar uma margem de erro relativamente grande, uma vez que se baseiam no autorrelato (Cade, Thompson, Burley, & Warm, 2002). Por isso, pode existir grande variabilidade do que é a alimentação e aquilo que o sujeito reporta. No entanto este método permite ter um acesso às componentes nutricionais e calóricas e poderá ser a melhor forma de controlar este fator (Cade, et al., 2002).

Apesar de ser um dado muito importante no dia-a-dia dos sujeitos, a quantificação da atividade física a partir da acelerometria pode ser insuficiente para

saber realmente os hábitos desta atividade principalmente as intensidades a que esta poderá ter sido realizada.

6. Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstram que, quando comparado com uma condição de placebo, o consumo durante quatro dias de 5 mg/kg/dia de cafeína, por consumidores não regulares, altera a utilização de substratos energéticos, promovendo uma maior oxidação de ácidos gordos como substrato energético preferencial.

7. Bibliografia

- Acheson, K. J., Gremaud, G., Meirim, I., Montigon, F., Krebs, Y., Fay, L. B., et al. (2004). Metabolic effects of caffeine in humans: lipid oxidation or futile cycling? *Am J Clin Nutr*, 79(1), 40-46.
- Acheson, K. J., Zahorska-Markiewicz, B., Pittet, P., Anantharaman, K., & Jequier, E. (1980). Caffeine and coffee: their influence on metabolic rate and substrate utilization in normal weight and obese individuals. *Am J Clin Nutr*, 33(5), 989-997.
- American College of Sports Medicine., Thompson, W. R., Gordon, N. F., & Pescatello, L. S. (2010). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription* (8th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Astorino, T. A., & Roberson, D. W. (2010). Efficacy of acute caffeine ingestion for short-term high-intensity exercise performance: a systematic review. *J Strength Cond Res*, 24(1), 257-265.
- Astrup, A., Toubro, S., Cannon, S., Hein, P., Breum, L., & Madsen, J. (1990). Caffeine: a double-blind, placebo-controlled study of its thermogenic, metabolic, and cardiovascular effects in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr*, 51(5), 759-767.
- Barrows, K., & Snook, J. T. (1987). Effect of a high-protein, very-low-calorie diet on resting metabolism, thyroid hormones, and energy expenditure of obese middle-aged women. *Am J Clin Nutr*, 45(2), 391-398.
- Bell, D. G., & McLellan, T. M. (2002). Exercise endurance 1, 3, and 6 h after caffeine ingestion in caffeine users and nonusers. *J Appl Physiol*, 93(4), 1227-1234.
- Bielinski, R., Schutz, Y., & Jequier, E. (1985). Energy metabolism during the postexercise recovery in man. *Am J Clin Nutr*, 42(1), 69-82.
- Broeder, C. E., Burrhus, K. A., Svanevik, L. S., & Wilmore, J. H. (1992). The effects of aerobic fitness on resting metabolic rate. *Am J Clin Nutr*, 55(4), 795-801.
- Burke, L. M. (2008). Caffeine and Sports Performance. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 33, 1319 - 1334.
- Cade, J., Thompson, R., Burley, V., & Warm, D. (2002). Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr*, 5(4), 567-587.

- Compher, C., Frankenfield, D., Keim, N., & Roth-Yousey, L. (2006). Best practice methods to apply to measurement of resting metabolic rate in adults: a systematic review. *J Am Diet Assoc*, 106(6), 881-903.
- Cooper, J. A., Watras, A. C., O'Brien, M. J., Luke, A., Dobratz, J. R., Earthman, C. P., et al. (2009). Assessing Validity and Reliability of Resting Metabolic Rate in Six Gas Analysis Systems. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(1), 128-132.
- Donnelly, J. E., Blair, S. N., Jakicic, J. M., Manore, M. M., Rankin, J. W., & Smith, B. K. (2009). American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc*, 41(2), 459-471.
- Dulloo, A. G., Geissler, C. A., Horton, T., Collins, A., & Miller, D. S. (1989). Normal caffeine consumption: influence on thermogenesis and daily energy expenditure in lean and postobese human volunteers. *Am J Clin Nutr*, 49(1), 44-50.
- Ferrannini, E. (1988). The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism*, 37(3), 287-301.
- Flatt, J. P. (1995). Body composition, respiratory quotient, and weight maintenance. *Am J Clin Nutr*, 62(5 Suppl), 1107S-1117S.
- Flatt, J. P., Ravussin, E., Acheson, K. J., & Jequier, E. (1985). Effects of dietary fat on postprandial substrate oxidation and on carbohydrate and fat balances. *J Clin Invest*, 76(3), 1019-1024.
- Frey-Hewitt, B., Vranizan, K. M., Dreon, D. M., & Wood, P. D. (1990). The effect of weight loss by dieting or exercise on resting metabolic rate in overweight men. *Int J Obes*, 14(4), 327-334.
- Gallagher, D., Belmonte, D., Deurenberg, P., Wang, Z., Krasnow, N., Pi-Sunyer, F. X., et al. (1998). Organ-tissue mass measurement allows modeling of REE and metabolically active tissue mass. *Am J Physiol*, 275(2 Pt 1), E249-258.
- Graham, T. E. (2001). Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Med*, 31(11), 785-807.
- Greenberg, J. A., Boozer, C. N., & Geliebter, A. (2006). Coffee, diabetes, and weight control. *Am J Clin Nutr*, 84(4), 682-693.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (1996). *Textbook of medical physiology* (9th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.

- Hill, J. O. (2006). Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. *Endocrine Reviews*, 27(7), 750-761
- Hill, J. O., Peters, J. C., Reed, G. W., Schlundt, D. G., Sharp, T., & Greene, H. L. (1991). Nutrient balance in humans: effects of diet composition. *Am J Clin Nutr*, 54(1), 10-17.
- Hue, L., & Taegtmeyer, H. (2009). The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297(3), E578-591.
- Jensen, M. D., Bajnárek, J., Lee, S. Y., Nielsen, S., & Koutsari, C. (2009). Relationship Between postabsorptive respiratory exchange ratio and plasma free fatty acid concentrations. *Journal of Lipid Research*, 50, 1863 - 1869.
- Jeukendrup, A. E., & Gleeson, M. (2004). *Sport nutrition : an introduction to energy production and performance*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- Jeukendrup, J. E., Saris, W. H. M., & Wagenmakers, A. J. M. (1998). Fat metabolism during exercise: A review Part I: Fatty acid mobilization and muscle metabolism. *International Journal of Sports Medicine*, 19(4), 231-244.
- Lamb, D. R., & Murray, R. (1999). *The metabolic basis of performance in exercise and sport*. Carmel, IN: Cooper Pub. Group.
- LeBlanc, J., Jobin, M., Cote, J., Samson, P., & Labrie, A. (1985). Enhanced metabolic response to caffeine in exercise-trained human subjects. *J Appl Physiol*, 59(3), 832-837.
- Lorenzo, A. D., Tagliabue, A., Andreoli, A., Testolin, G., Comelli, M., & Deurenberg, P. (2001). Measured and predicted resting metabolic rate in Italian males and females, aged 18 - 59 y. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55, 208-214.
- MacKenzie, T., Comi, R., Sluss, P., Keisari, R., Manwar, S., Kim, J., et al. (2007). Metabolic and hormonal effects of caffeine: randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *Metabolism*, 56(12), 1694-1698.
- Martin, C. K., Heilbronn, L. K., de Jonge, L., DeLany, J. P., Volaufova, J., Anton, S. D., Redman, L. M., Smith, S. R. & Ravussin, E. (2007). Effect of Calorie Restriction on Resting Metabolic Rate and Spontaneous Physical Activity. *Obesity* (15), 2964-2973.
- Melby, C., Scholl, C., Edwards, G., & Bullough, R. (1993). Effect of acute resistance exercise on postexercise energy expenditure and resting metabolic rate. *J Appl Physiol*, 75(4), 1847-1853.

- Nelson, K. M., Weinsier, R. L., James, L. D., Darnell, B., Hunter, G., & Long, C. L. (1992). Effect of weight reduction on resting energy expenditure, substrate utilization, and the thermic effect of food in moderately obese women. *Am J Clin Nutr*, 55(5), 924-933.
- Pessin, J. E., & Saltiel, A. R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest*, 106(2), 165-169.
- Poehlman, E. T., Denino, W. F., Beckett, T., Kinaman, K. A., Dionne, I. J., Dvorak, R., et al. (2002). Effects of endurance and resistance training on total daily energy expenditure in young women: a controlled randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(3), 1004-1009.
- Poehlman, E. T., Despres, J. P., Bessette, H., Fontaine, E., Tremblay, A., & Bouchard, C. (1985). Influence of caffeine on the resting metabolic rate of exercise-trained and inactive subjects. *Med Sci Sports Exerc*, 17(6), 689-694.
- Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., & Newsholme, E. A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 1(7285), 785-789.
- Ravussin, E., & Bogardus, C. (1989). Relationship of genetics, age, and physical fitness to daily energy expenditure and fuel utilization. *Am J Clin Nutr*, 49(5 Suppl), 968-975.
- Ravussin, E., Burnand, B., Schutz, Y., & Jequier, E. (1982). Twenty-four-hour energy expenditure and resting metabolic rate in obese, moderately obese, and control subjects. *Am J Clin Nutr*, 35(3), 566-573.
- Soares, M. J., Sequeira, J., & Shetty, P. S. (1988). The effect of the preceding day's protein intake on basal metabolic rates in young adults. *British Journal of Nutrition*, 60, 425 - 431.
- Sparti, A., DeLany, J. E., Bretonne, J. A. d. I., Sander, G. E., & Bray, G. A. (1997). Relationship Between Resting Metabolic Rate and the Composition of the Fat-Free Mass. *Metabolism*, 46(10), 1225-1230.
- Speakman, J. R., & Selman, C. (2003). Physical activity and resting metabolic rate. *Proc Nutr Soc*, 62(3), 621-634.
- Swaminathan, R., King, R. F., Holmfield, J., Siwek, R. A., Baker, M., & Wales, J. K. (1985). Thermic effect of feeding carbohydrate, fat, protein and mixed meal in lean and obese subjects. *Am J Clin Nutr*, 42(2), 177-181.

- Thivel, D., Brakonietki, K. Duche, P., Béatrice, M., Yves, B., Laferrère, B. (2012). Surgical Weight Loss: Impact on Energy Expenditure. *Obes Surg*, Epub ahead of print
- van Dam, R. M., Pasma, W. J., & Verhoef, P. (2004). Effects of coffee consumption on fasting blood glucose and insulin concentrations: randomized controlled trials in healthy volunteers. *Diabetes Care*, 27(12), 2990-2992.
- Wang, Z., Heshka, S., Gallagher, D., Boozer, C. N., Kotler, D. P., & Heymsfield, S. B. (2000). Resting energy expenditure-fat-free mass relationship: new insights provided by body composition modeling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 279(3), E539-545.
- Weir, J. B. (1949). New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol*, 109(1-2), 1-9.
- Westerterp-Plantenga, M., Diepvens, K., Joosen, A. M., Berube-Parent, S., & Tremblay, A. (2006). Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiol Behav*, 89(1), 85-91.
- Westerterp-Plantenga, M. S., Lejeune, M. P., & Kovacs, E. M. (2005). Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *Obes Res*, 13(7), 1195-1204.
- Westerterp, K. R. (1993). Food quotient, respiratory quotient, and energy balance. *Am J Clin Nutr*, 57(5 Suppl), 759S-764S; discussion 764S-765S.
- Wilmore, J. H., & Costill, D. L. (1999). *Physiology of sport and exercise* (2nd ed.). Champaign, IL: Human Kinetics.
- Zurlo, F., Larson, K., Bogardus, C., & Ravussin, E. (1990). Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. *J Clin Invest*, 86(5), 1423-1427.